

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2008.04.015

cDNA 基因芯片对人胶质瘤组织原发性耐药相关基因的筛查

强兆艳, 汤 华*, 李 欣, 刘 民(天津医科大学 天津市生命科学研究中心, 天津 300050)

[摘要] 目的: 利用 cDNA 基因芯片筛查与人脑胶质瘤原发性耐药相关的基因, 为获取不同个体胶质瘤化疗药物药敏预报基因提供实验依据。方法: 收集符合要求的临床手术切除的人脑胶质瘤组织标本共 6 例, 原代培养肿瘤细胞; 由 MTT 法检测替尼泊苷 (teniposide, VM-26) 对胶质瘤细胞生长的抑制率, 按 VM-26 45 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (人血药峰浓度) 时抑制率 $>30\%$ 为敏感、 $\leq 30\%$ 为耐药作为标准, 将 6 例组织细胞分为耐药和敏感 2 组。cDNA 芯片检测结合聚类分析方法筛查瘤细胞中与耐药相关的差异表达基因; 以半定量 RT-PCR 法检测瘤细胞中 *HDAC1* 基因表达加以验证。结果: 根据 VM-26 对细胞抑制率将 6 例胶质瘤细胞分为 3 例 VM-26 敏感和 3 例耐药。cDNA 芯片结合聚类分析共筛选出有表达差异的基因 21 个, 其中表达上调的基因 6 个、表达下调的基因 15 个。将表达差异明显的 *HDAC1* 经半定量 RT-PCR 验证, 该基因在 6 例组织中都有表达, 趋势与芯片结果一致。结论: 胶质瘤原发性耐药可能与 cDNA 芯片筛查到的 21 个基因相关, 其确切的耐药机制需要进一步深入研究。

[关键词] 胶质瘤; 替尼泊苷; cDNA 基因芯片; 耐药相关基因; 差异表达基因

[中图分类号] R739.41; R730.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2008)04-0369-05

cDNA microarray technique in screening primary drug resistance-related genes of human malignant glioma

QIANG Zhao-yan, TANG Hua*, LI Xin, LIU Min(Tianjin Life Science Research Center, Tianjin Medical University, Tianjin 300050, China)

[Abstract] **Objective:** To screen for primary drug resistance-related genes of human malignant glioma using cDNA microarray, so as to provide evidence for drug-sensitive predicting gene for chemodrugs for malignant gliomas of different patients. **Method:** Six fresh glioma specimens were obtained immediately after surgical resection and were primary cultured. MTT method was used to determine the inhibitory effect of Teniposide (VM-26) against gliomas. When 4.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (peak blood drug concentration, 1PPC) was used, the inhibitory rate $>30\%$ was considered sensitive and the rate $\leq 30\%$ was considered resistant; and the 6 specimens were divided into 2 group according to the above standard. cDNA microassay combined with clustering analysis was used to screen for resistance-related genes. Semi-quantitative RT-PCR was used for verification of *HDAC1* gene expression. **Results:** Three of the 6 glioma specimens belonged to the drug resistance group and the other 3 to the drug sensitive group. cDNA microarray analysis combined with cluster analysis screened out 21 genes, with 6 up-regulated and 15 down-regulated. High expression of gene *HDAC1* was noticed in all the 6 specimens by semi-quantitative RT-PCR, and the trend was similar to that by microassay. **Conclusion:** The primary drug resistance of glioma may be associated with the 21 genes screened by cDNA microarray; the detailed mechanisms for drug controlling still need to discussed in the future.

[Key words] glioma; teniposide; cDNA microarray; drug resistant related gene; differential expression gene

[Chin J Cancer Biother, 2008, 15(4): 369-373]

化疗作为全身治疗方案虽然在提高胶质瘤疗效方面具有重要的作用, 但许多患者在接受化疗后仍然发生肿瘤的转移和复发; 同时患者对同种化疗药物或方案的反应性存在很大的差别, 究其原因, 与肿瘤的复杂耐药机制有关。因此, 迫切需要寻找能够预测患者对化疗药物敏感性的指标, 从而针对个体及时地调整化疗的策略, 减少耐药的发生和肿瘤的转移与复发。目前已建立的多种药敏检测方法涉及到分子、蛋白、细胞等多个水平, 然而这些方法通常只能对复杂耐药机制作出单一因素的描述。全面揭

示化疗药物所致的多个分子的变化特征, 并筛选出与药物敏感性密切相关的基因群, 即化疗药敏预报基因, 对于准确预测和评估患者的化疗敏感性, 进而指导临床治疗具有重要意义。

[基金项目] 天津市科技发展计划资助项目(No. 033182911)。 Supported by the Science and Technology Development Program of Tianjin (No. 033182911)

[作者简介] 强兆艳(1973-), 女, 天津市人, 博士, 讲师, 主要从事肿瘤药理学研究, E-mail qzys@ sina. com

* Corresponding author. E-mail: htang2002@ yahoo. com

本研究收集临床手术切除的胶质瘤组织进行原代培养和药物敏感性测定, 筛选对化疗药物替尼泊昔(teniposide, VM-26)耐药和敏感的病例, 以 cDNA 芯片分析基因表达谱的变化, 筛查耐药相关的基因, 为寻找化疗药敏预报基因提供实验依据。

1 材料与方 法

1.1 主要实验材料及试剂

人胶质瘤组织来自于天津市环湖医院手术室, 病理分型确定, 术前、术中未经任何放、化疗。收集肿瘤时尽量避免坏死组织, 切除的肿瘤一部分立即置于液氮, 其余部分置于 15 ml 无血清的 MEM- α 培养液(含青霉素 100 U/ml、链霉素 100 U/ml)中 4 $^{\circ}$ C 保存, 于 1 h 内送实验室。

MEM- α 培养液(GIBCO)、小牛血清(中国医学科学院血液学研究所)、胰蛋白酶(GIBCO)、MTT (Genview 分装)、替尼泊昔(Teniposide, VM-26; 50 mg/5 ml, 施贵宝公司)、TRIzol Reagent(Invitrogen)、琼脂糖(GBICO)、Oligo dT(Takara)、5 \times RT 缓冲液(Promega)、DTT(Promega)、dNTP (北京鼎国生物技术有限公司)、RNasin(Promega)、M-MLV(Promega)、Taq 酶(Fermentas), 其他均为国产优级纯。

1.2 人胶质瘤细胞的原代培养

超净台内去除肿瘤组织血管、结缔组织和坏死组织, PBS 清洗后剪成约 1 mm³ 小块, 0.1% 胰酶 37 $^{\circ}$ C 消化 15 ~ 30 min, 轻轻吹打, 吸取少量液体镜下观察, 可见到单个、或二三个聚集在一起的肿瘤细胞, 此时可认为组织已经消化充分; 100 目滤网过滤, 1 ml 血清终止酶的消化作用。滤液 1 000 \times g 离心 10 min, PBS 重悬, 锥虫蓝染色, 计数活细胞数 > 90% 为原代培养胶质瘤细胞质量合格的判断指标。

1.3 MTT 法检测替尼泊昔对原代人胶质瘤细胞的细胞毒作用

细胞悬液以 5 \times 10⁴ ~ 1 \times 10⁵ /孔接种 96 孔板。每孔加入不同质量浓度 VM-26, 使其终质量浓度分别为 0.45、4.5、45、450 μ g/ml (相当于 0.01、0.1、1、10 倍血药峰浓度), 设 3 个复孔; 同时设细胞对照 3 孔, 只加肿瘤细胞悬液; 空白对照 3 孔, 每孔只加细胞培养液。两组对照均加入不含药物的无血清 MEM- α , 各孔终体积为 100 μ l。置 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 孵箱培养 48 h 后, 1 000 \times g 离心 5 min, 去上清, 每孔加入 100 μ l DMSO 终止反应并溶解蓝紫色甲赞颗粒, 震荡混匀, 酶标仪测波长为 570 nm 的各孔光密度值(D_{570})。计算抑制率:

抑制率(%) = (细胞对照组 D_{570} - 实验组 D_{570}

- 空白对照组 D_{570} / (细胞对照组 D_{570} - 空白对照组 D_{570}) \times 100 %

根据不同浓度梯度的抑制率拟合曲线, 选择剂量反应关系良好的标本, 以 VM-26 为 4.5 μ g/孔 (1 倍血药峰浓度) 的胶质瘤细胞抑制率 > 30% 为敏感, \leq 30% 为耐药作为区分标准, 将胶质瘤组织细胞划分为敏感和耐药两组。

1.4 组织总 RNA 的提取和鉴定

组织置于研钵中研磨至完全成粉末。每 150 ~ 200 mg 组织加入 3 ml Trizol, 继续研磨。每毫升匀浆液加入 200 μ l 氯仿, 混匀 30 s, 16 000 \times g 离心 20 min。吸出上清, 加入预冷的异丙醇 600 μ l, -40 $^{\circ}$ C 放置 1 h。16 000 \times g 离心 30 min, 弃上清。加入 1 ml 75% 乙醇, 弹起沉淀, 16 000 \times g 离心 5 min, 弃上清。室温干燥 5 min, 每管加入 100 μ l DEPC 水溶解。每管取出 1 μ l 溶解于 9 μ l DEPC 水中电泳; 测定 RNA 的纯度与浓度。

1.5 cDNA 基因芯片检测替尼泊昔耐药和敏感细胞的基因表达差异

芯片由本室制备, 探针购买于 QIAGEN Operon 公司, 共含有 7 267 个人类基因, 包含凋亡相关基因、肿瘤相关基因、信号转导相关基因、肝酶代谢相关基因、细胞因子相关基因等 5 部分。使用 SpotArrayTM 24 Microarray Printing System 将探针点样至玻片上, 每个探针重复点样 2 次。

cDNA 的合成和标记、芯片杂交和 TSA 检测及其后的数据分析均按照 MICROMAXTM TSA 标记和检测试剂盒说明进行。其基本操作过程包括以下几个步骤: 点样, 点样后基片的处理, cDNA 的合成和标记, 标记 cDNA 的分析, 芯片杂交, TSA 检测和荧光扫描以及扫描数据的分析。

1.6 半定量 RT-PCR 验证表达差异的基因

从 cDNA 芯片筛查到的表达差异基因中挑选明显表达上调的 *DHAC1* 基因进行 RT-PCR 进行验证。上下游引物分别为 5'-ATCGGTTAGGTTGCTTC-3'; 5'-TTGTCAGGGTCGTCTTC-3', 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min 后 94 $^{\circ}$ C 变性 1 min, 56 $^{\circ}$ C 复性 1 min, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 共 30 个循环, 最终产物大小为 403 bp。

PCR 反应结束后, 取各基因全部 PCR 产物 25 μ l 加上样缓冲液 2.5 μ l 混合, 1.5% 琼脂糖凝胶电泳, 以 UVP 凝胶扫描成像系统记录观察结果并拍照。用 LabWorks4.0 Image Acquisition and Analysis 软件对电泳结果进行定量分析。 β -actin 为内参照基因, 根据组织中不同基因和 β -actin 基因条带的面积和灰度作比较, 基因的表达式(%) = 各基因密度

值/ β -actin 密度值 $\times 100\%$ 。

1.7 统计学处理

将标本分为敏感和耐药两组,应用 SAM3.0 软件芯片杂交数据进行聚类分析,在两组中表达有明显差异的基因可能与耐药或敏感性相关。

2 结果

2.1 胶质瘤组织标本的收集及其 VM-26 敏感性的分类

采集胶质瘤组织标本共计 22 例,其中 14 例 MTT 后证实细胞活性不好,不予采用;2 例复发病例,因为肿瘤组织量极少,无法进行原代培养;余下的 6 例 MTT 检测结果证实活性良好,3 例对 VM-26 敏感,3 例耐药(表 1)。将此 6 例细胞分别组成敏感组和耐药组,敏感组中的 3 例标本分别编号为敏感 1、敏感 2、敏感 3;耐药组中的 3 例标本分别编号为耐药 1、耐药 2、耐药 3。各自提取 RNA 进行基因芯片分析。

表 1 VM-26 对 6 例胶质瘤标本细胞的抑制率(%)

Tab. 1 Inhibition rates of teniposide on malignant glioma cells in 6 specimens (%)

Group	No. 1	No. 2	No. 3
Sensitive cells	78.53 \pm 5.35	75.89 \pm 7.43	56.07 \pm 6.62
Resistant cells	28.98 \pm 4.98	20.43 \pm 9.47	0.11 \pm 0.03

2.2 基因芯片对耐药和非耐药人胶质瘤组织细胞表达差异基因的筛查结果

点样及芯片处理后,采用共聚焦荧光扫描仪对芯片进行 Cy5 荧光扫描,测定背景值,结果显示芯片基因点清晰,没有基因漏点、重迭、以及不正常荧光的情况,各芯片的背景值均匀,符合要求;芯片杂交后:各芯片均清晰、均匀,无明显的彗星状拖尾现象,背景值均匀,无局部信号过强或过弱的情况,基因表达芯片的扫描图像显示杂交结果可靠(图 1)。

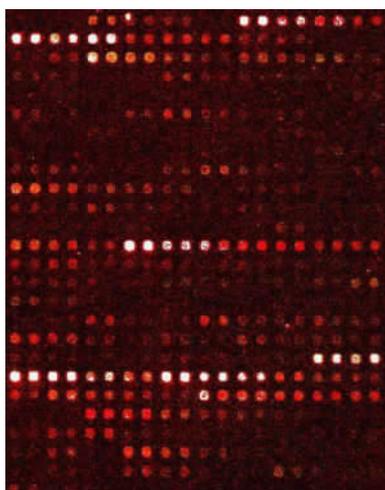


图 1 人胶质瘤组织细胞 cDNA 基因芯片的杂交图像
Fig. 1 cDNA microarray images after hybridization for human malignant glioma cells

将人胶质瘤标本细胞分为敏感和耐药两类,应用 SAM 软件对芯片杂交数据进行聚类分析,在两类标本中表达有明显差异的基因可能与耐药或敏感性相关。

聚类分析共筛选出有表达差异的基因 21 个,其中表达上调的基因 6 个,表达下调的基因 15 个。从功能角度分析,21 个基因中主要涉及细胞生长和分化、细胞凋亡、信号转导、基因转录、代谢等类型(图 2,表 2)。

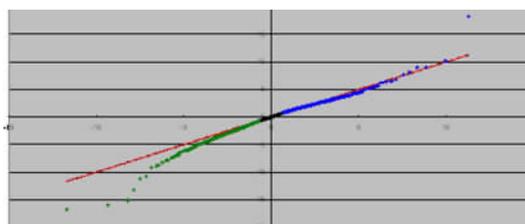


图 2 6 例胶质瘤细胞中 7 267 个基因差异表达的聚类分析
Fig. 2 Cluster analysis for 7 267 differentially expressed genes in glioma cells from 6 specimens

The red dots represented the up-regulated genes, and the green dots represented the down-regulated genes

2.3 HDAC1 基因在胶质瘤组织中的表达

从基因芯片筛选出的差异表达基因中选取明显上调的 HDAC1 基因,以 RT-PCR 法检测其在胶质瘤组织中表达情况,用作对芯片检测结果的验证。RT-PCR 产物经电泳检测显示,上调基因 HDAC1 在 6 例胶质瘤组织中均能扩增出位置正确的条带,其表达趋势与芯片结果一致(图 3)。

3 讨论

cDNA 芯片技术能在同一张芯片上同步检测成千上万个基因,自动、快速地检测可以影响药物效应的基因和决定个人对药物毒性敏感性的基因,分析患者个体细胞对多种药物的反应性,可以指导临床

表 2 聚类分析得到的 6 个胶质瘤标本中的表达差异基因
Tab. 2 Differential expression genes obtained from 6 glioma spesimens by cluster analysis

Gene No.	Symbol	Function
Up regulation		
NM_014430	<i>CIDEB</i>	Cell growth and differentiation
NM_002518	<i>NPAS2</i>	Memory
NM_001977	<i>ENPEP</i>	Associated with genopathy
NM_000161	<i>GCHI</i>	Metabolism
NM_004964	<i>HDAC1</i>	Cell growth and differentiation
NM_001868	<i>CPA1</i>	Inhibitory enzyme
Down regulation		
NM_006624	<i>ZMYND11</i>	Transcription inhibition
NM_005354	<i>JUND</i>	Apoptosis
NM_005104	<i>BRD2</i>	Cell growth and differentiation
AF081567	<i>PRKRIR</i>	Apoptosis
NM_007202	<i>AKAP10</i>	Signal transduction
NM_000954	<i>PTGDS</i>	Catalysis synthesis PGD2
NM_000690	<i>ALDH2</i>	Metabolism
NM_001788	<i>SEPT7</i>	Cell cycle
NM_001659	<i>ARF3</i>	Activate phosphatidase D
NM_004615	<i>TSPAN7</i>	Signal transduction
NM_006272	<i>SIOOB</i>	Cell growth and differentiation
NM_004226	<i>STK17B</i>	T cell activation
AK026424	<i>GNG2</i>	Signal transduction
NM_005470	<i>ABII</i>	Signal transduction
NM_007373	<i>SHOC2</i>	Suppress ERK activity

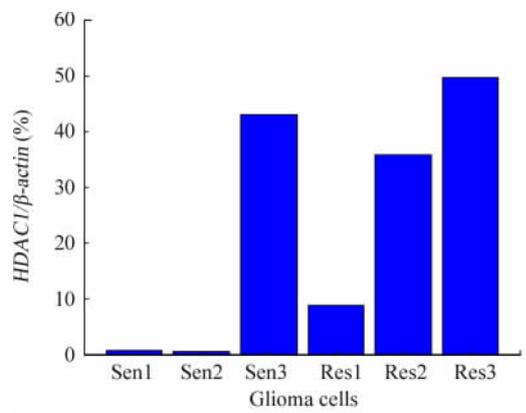


图 3 RT-PCR 检测 6 例胶质瘤细胞中 *HDAC1* 基因的表达
Fig. 3 Expression of HDAC1 gene in glioma cells from 6 spesimens by RT-PCR
 Sen: Sensitive cells; Res: Resistant cells

治疗,并且为研究新的耐药相关基因提供参考。通过 DNA 芯片测定药物诱导的细胞基因表达变化来进行药物筛选与研究,对那些用常规方法很难追踪检测的药物或需要很长时间才能得到药物临床试验结果时,显得尤为有用。

本研究中,由于患者性别和年龄差异较大,病例数量也偏少,基因芯片杂交筛选时无法进行配对的病例对照研究。根据用 SAM 聚类的原则,将 6 例标本按照对药物的敏感性分成敏感组和耐药组,进行基因芯片筛查,然后经聚类分析筛选出 6 个表达上调基因,其中 1 个与凋亡有关,2 个与细胞的生长和分化有关,其余 3 个功能各异;分析筛选出 15 个表达下调基因,其中 2 个与凋亡相关,2 个与细胞的生长和分化有关,4 个与信号转导相关,1 个与转录相关,1 个与代谢相关、其余 5 个功能各异。

本研究筛查出的凋亡相关基因中,*CIDEB* 基因是凋亡诱导因子家族的一员,N 端区域与 DNA 断裂因子(DEF)具有同源性,能激活凋亡;*JUND* 基因没有内含子,是 JUN 家族的成员,能抵御 p53 依赖性的细胞老化和凋亡,由蛋白酶抑制剂 Bortezomib 诱导的凋亡中,*JUND* 高表达^[1];*STK17B* 基因是正向的凋亡调控因子。目前未见 *JUND* 与 *STK17B* 参与胶质瘤耐药的报道。

筛查到的细胞生长和分化相关基因中,*ENPEP* 在肾素-血管紧张素系统的代谢途径中起作用,调节细胞的生长和分化;*TSPAN7* 编码的蛋白介导信号转导,可能在调控轴突的向外生长中发挥作用,*PRKRIR* 是干扰素诱导的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(pkr)上游的调控因子。目前未见 *TSPAN7* 与 *PRKRIR* 参与胶质瘤耐药的报道。

筛查到的信号转导相关基因中,*BRD2* 基因可能是生长调控信号转导途径中的一部分^[2],其过表达在凋亡起始阶段具有特殊的作用^[3];*AKAP10* 编码的 AKAP 蛋白与 PKA 一型和二型调节亚基都能相互作用和 G 蛋白信号转导有关;*ABII* 基因参与从 Ras 到 Rac 的信号转导;*SHOC2* 的是通过生长因子活化 MAPK 通路的关键步骤^[4]。

筛查到的转录相关基因中,*ZMYND11* 编码的蛋白能结合腺病毒 E1A 蛋白,定位于细胞核,是转录抑制剂。筛查到的代谢相关基因中,*ALDH2* 编码蛋白属于醛脱氢酶家族,该基因编码的蛋白为线粒体亚型,定位在线粒体基质。筛查到的余下的 8 个基因都具有各种生物功能。

本研究选择 *HDAC1* 基因进行半定量 RT-PCR 验证芯片筛选结果,验证显示,*HDAC1* 的表达差异

水平与芯片筛选结果一致。*HDAC1* 是第一个被确定的哺乳动物脱乙酰基酶,大量调节细胞周期、分化和发育的转录因子都与 *HDAC1* 有关,从而介导特异性靶基因的抑制^[5-7]。*HDAC1* 两个等位基因的断裂能产生严重的增殖缺陷和发育迟缓而使胚胎死亡^[8],并且 *HDAC1* 缺失明显减少全部脱乙酰基酶的活性,没有其他途径能替代^[8]。另外,*HDAC1* 在几种人类肿瘤细胞中都高表达^[9],*HDAC1*、*HSCO* 和 *p53* 在细胞核内形成一个复合体,*HSCO* 作为辅助因子提高 *HDAC1* 对 *p53* 的脱乙酰基酶活性,使 *p53* 表达降低,从而使凋亡减少^[10]。使用 *HDAC* 抑制剂增加组蛋白 H4 的乙酰化,诱导人结肠癌细胞系 SW620 的凋亡,*HDAC1* 被抑制后,TRAIL 更容易诱发细胞产生凋亡,使原发性肝细胞癌细胞对 TRAIL 的耐受性降低^[11-13]。在成神经细胞瘤细胞系中,*HDAC1* mRNA 的高表达与多药耐药性相关,如果抑制该基因的表达,则会增加化疗药物对该细胞系的抑制作用^[14]。本研究结果认为,*HDAC1* 可能与胶质瘤耐药相关,但目前尚未发现相关的报道,需要对其耐药的作用机制进行进一步深入探讨;如果能确定 *HDAC1* 在胶质瘤耐药中的作用机制,可以将其作为一个新的肿瘤化疗耐药预报基因。

深入了解胶质瘤耐药分子机制是克服其化疗耐药的关键,目前已知的胶质瘤中与耐药相关的基因主要有 *MGMT*、*GSTP1* 和 *p53* 突变^[15]。CD133 阳性的肿瘤干细胞 *MGMT* 和 *BCRP1* 高表达,也表现出对化疗药物的高度耐受^[16]。但是,胶质瘤中 *MDR1* 的表达并不一致,至今尚未有证明 P-gP 阻制药物在脑肿瘤细胞中积聚从而导致耐药的直接依据。本研究芯片杂交数据经聚类分析后也没有发现 *MDR1* 与胶质瘤的原发性耐药有明显的相关,但经过长期小剂量诱导的胶质瘤细胞系 *MDR1* 表达却明显升高^[17]。本研究发现 *MGMT*、*GSTP1* 和 *p53* 的表达确有升高,但与列出的基因相比并不是非常明显,所以未将其作为主要目标基因进行验证。

本研究中筛查到的基因大致可分为与凋亡、细胞生长分化、转录、信号转导、代谢相关等 5 类,基因表达的验证工作正在进行中,验证后将深入进行胶质瘤耐药相关机制的研究,目的也是在于能够找到一些新的与耐药相关的基因,从而确定新的耐药预报基因。化疗药敏预报基因群一旦建立,必将大大提高化疗疗效,造福于肿瘤患者。

[参 考 文 献]

[1] Shringarpure R, Catley L, Bhole D, et al. Gene expression analy-

sis of B-lymphoma cells resistant and sensitive to bortezomib[J]. Br J Haematol, 2006, 134(2): 145-156.

- [2] Lenburg ME, Sinha A, Faller DV, et al. Tumor-specific and proliferation-specific gene expression typifies murine transgenic B cell lymphomagenesis[J]. J Biol Chem, 2007, 282(7): 4803-4811.
- [3] Zhou M, Xu XJ, Zhou HD, et al. BRD2 is one of BRD7-interacting proteins and its over-expression could initiate apoptosis[J]. Mol Cell Biochem, 2006, 292(1-2):205-212.
- [4] Rodriguez-Viciana P, Osés-Prieto J, Burlingame A, et al. A phosphatase holoenzyme comprised of Shoc2/Sur8 and the catalytic subunit of PPI functions as an M-Ras effector to modulate Raf activity[J]. Mol Cell, 2006, 22(2): 217-230.
- [5] Cress WD, Seto E. Histone deacetylases, transcriptional control, and cancer[J]. J Cell Physiol, 2000, 184(1): 1-16.
- [6] Ahringer J. NuRD and SIN3 histone deacetylase complexes in development[J]. Trends Genet, 2000, 16(8): 351-356.
- [7] Ng HH, Bird A. Histone deacetylases: silencers for hire[J]. Trends Biochem Sci, 2000, 25(3): 121-126.
- [8] Lagger G, O'Carroll D, Rembold M, et al. Essential function of histone deacetylase 1 in proliferation control and CDK inhibitor repression[J]. EMBO J, 2002, 21(11): 2672-2681.
- [9] Choi JH, Kwon HJ, Yoon BI, et al. Expression profile of histone deacetylase 1 in gastric[J]. Jpn J Cancer Res, 2001, 92(12): 1300-1304.
- [10] Higashitsuji H, Masuda T, Liu Y, et al. Enhanced deacetylation of p53 by the anti-apoptotic protein HSCO in association with histone deacetylase 1[J]. J Biol Chem, 2007, 282 (18): 13716-13725
- [11] Hu E, Dul E, Sung CM, et al. Identification of novel isoform-selective inhibitors within class I histone deacetylases[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2003, 307(2): 720-728.
- [12] Inoue S, Mai A, Dyer M, et al. Inhibition of histone deacetylase class I but not class II is critical for the sensitization of leukemic cells to tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-induced apoptosis[J]. Cancer Res, 2006, 66 (13): 6785-6792.
- [13] Pathil A, Armeanu S, Venturelli S, et al. HDAC inhibitor treatment of hepatoma cells induces both TRAIL-independent apoptosis and restoration of sensitivity to TRAIL[J]. Hepatology, 2006, 43 (3): 425-434
- [14] Keshelava N, Davicioni E, Wan Z, et al. Histone deacetylase 1 gene expression and sensitization of multidrug-resistant neuroblastoma cell lines to cytotoxic agents by depsipeptide[J]. J Natl Cancer Inst, 2007, 99 (14): 1107-1119.
- [15] Fruehauf JP, Brem H, Brem S, et al. In vitro drug response and molecular markers associated with drug resistance in malignant gliomas[J]. Clin Cancer Res, 2006, 12(15): 4523-4532.
- [16] Liu G, Yuan X, Zeng Z, et al. Analysis of gene expression and chemoresistance of CD133+ cancer stem cells in glioblastoma[J]. Mol cancer, 2006, 5: 67.
- [17] 强兆艳, 汤 华, 李 欣, 等. 胶质瘤耐药细胞株的建立及其继发性耐药相关基因的筛查[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2007, 14(5):455-460.

[收稿日期] 2008 - 04 - 30

[修回日期] 2008 - 07 - 05

[本文编辑] 王 莹